

## 5-Oxoheptyl-3,7-dimethylxanthine이 사염화탄소로 유발된 흰쥐의 간손상에 미치는 영향

신혜순\*, 이보란

덕성여자대학교 약학대학

## The Effect of 5-Oxoheptyl-3,7-dimethylxanthine on Carbon Tetrachloride-Induced Hepatotoxicity in Rats

Hea Soon Shin\* and Bo Ran Lee

College of Pharmacy, Duksung Women's University, Seoul 132-714, Korea

### ABSTRACT

A series of new derivatives of 1-(5-oxoheptyl)-3,7-dimethylxanthine has been prepared for the treatment of the vascular dementia. To investigate hepatoprotective effect of these derivatives, the serum biochemical activity and the histological change of liver tissue were evaluated in carbon tetrachloride (CCl<sub>4</sub>) treated rats. The activities of aspartate aminotransferase and alanine aminotransferase and the activities of total cholesterol, triglyceride and total bilirubin in 5-oxoheptyl-3,7-dimethylxanthine derivatives pretreated rats were significantly decreased compared to the CCl<sub>4</sub> only treated rats but the content of glutathione S-transferase was increased compared to the CCl<sub>4</sub> only treated rats. These results indicated that 5-oxoheptyl-3,7-dimethylxanthine derivatives have hepatoprotective effect in CCl<sub>4</sub> intoxicated rats.

**Key words** : hepatoprotective effect, 5-oxoheptyl-3,7-dimethylxanthine derivatives, CCl<sub>4</sub>

### 서론

인성 치매는 크게 퇴행성 치매와 뇌혈관성 치매의 두 가지로 분류할 수 있다. 퇴행성 치매는 진행 속도가 늦고 신경구조의 퇴화 및 선택적인 신경세포 기능부전과 소실이 발생하는(Aisen and Davis, 1994; Cummings and Back, 1998) 것으로 대표적으로 알츠하이머 질환(Alzheimer's disease)이 있다. 뇌혈관성 치매(Vascular dementia)는 다발성 경색

으로서 갑자기 발생하여 뇌경색, 뇌출혈 등의 뇌혈관 장애에 의한 반신마비나 언어장애와 같은 국소 신경증상을 나타낸다. 우리나라나 일본에서 발생빈도가 높은(Kim *et al.*, 2002) 뇌혈관성 치매는 혈관성 병변이 존재하며, 환자의 2분의 1이 알츠하이머 질환을 동시에 갖고 있다. 뇌혈관성 치매의 경우에도 알츠하이머 질환과 같이 microglia cell이 활성화되어 cytokine, nitric oxide, oxygen free radical, protease을 분비하여 염증을 일으키고 신경변성 과정이 일어나며 허혈성 변화가 생기며, 성상교세포아형(astrocyte subtype)이 형성됨으로써 nerve growth factor (NGF)를 생성하는 능력이 감소되어 나타난다(Grundman *et al.*, 1998; McGeer and Mc-

\* To whom correspondence should be addressed.  
Tel: +82-2-901-8398, Fax: +82-2-901-8386  
E-mail: hsshin@duksung.ac.kr

Geer, 2001). 이러한 microglia cell의 활성화 억제효과와 astrocyte로부터 NGF를 증가시키는 작용이 보고된 propentoxifylline의 예는 알츠하이머 질환과 뇌혈관성 치매를 동시에 치료할 수 있는(Bohm *et al.*, 2000; Iwamoto *et al.*, 2002) 작용기전으로도 설명될 수 있다.

뇌혈관성 치매 치료제로서 가능성이 기대되는 유도체 모약인 pentoxifylline (PTX, Trental<sup>®</sup>)은 일반적으로 말초혈관질환(peripheral vascular disease) 치료에 사용되고 있다. PTX는 적혈구의 가변형성(flexibility)을 증가시키며 혈류속도의 증가, 섬유소원의 감소 및 혈관확장기능을 나타내고(Poggesi *et al.*, 1985), 혈액의 점성을 감소시키고, 세포막 phosphodiesterase 억제와(Preaux *et al.*, 1997) prostacyclin 합성을 증가시켜(Peterson *et al.*, 1993) 혈소판 응집을 억제하는 혈류개선제이다. Bohm 등이 보고한 propentoxifylline의 경우는 PTX의 7위치의 methyl기를 propyl기로 치환하여 지용성을 증가시킴으로써 뇌혈관 장벽(blood-brain-barrier)의 통과가 더 용이해져서(Bohm *et al.*, 2000) 알츠하이머 질환과 뇌혈관성 치매질환의 진행을 늦출 수 있다는 연구 결과를 발표하여 새로운 치매치료제로의 가능성을 나타내었다(Herman *et al.*, 1994; Keith, 1995). 그러나 과량투여시에 식욕감퇴, 구토 등 위장관계와 중추신경계 등에 나타나는(Windmeier and Gressner, 1996) 부작용이나 cimetidine과 같은 다른 약물과의 상호작용, adenosine 재흡수 억제로 인한 지질과산화작용의 저해 등으로 신장과 간에 대한(Bohm *et al.*, 2000; Iwamoto *et al.*, 2002) 문제점이 지적된 바 있다.

본 연구는 이러한 유도체개발의 문제점에 착안하

여 혈류개선제인 PTX의 구조를 변형한 유도체로서 뇌혈관성 치매에 대한 잠재적 뇌혈관계 염증경로 차단효과가 기대되는 새로운 뇌혈관성 치매치료제 약물을 합성하고, 이에 관한 사염화탄소로 유발된 흰쥐의 급성 간독성에 미치는 영향을 평가하기 위하여 혈액생화학적 활성변화 및 조직학적 검경변화를 관찰하여 간손상 보호효과를 검증하였다.

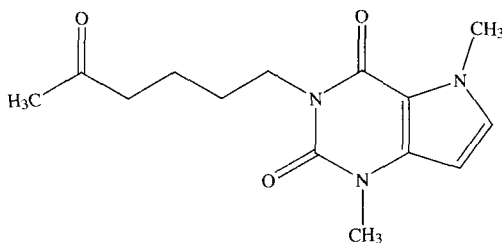
## 재료 및 방법

### 1. 기기 및 시약

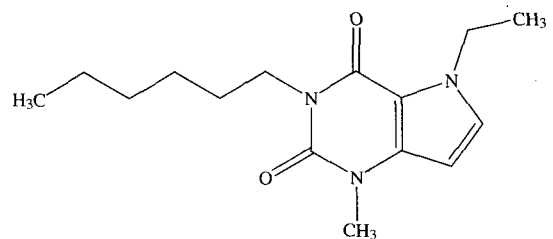
화합물합성에 사용한 기기는 Bruker사의 300 MHz NMR spectrometer를 사용하여 proton과 carbon nuclear resonance를 측정하였고 화학이동들은 TMS를 reference로 ppm단위로 기록하였다. IR spectrum은 Perkin-Elmer FT-IR spectrometer spectrum GX를 사용하여 NaCl cell 및 nujol 용액으로 측정하였다. GC-MS는 Agilent 6890 GC 및 5973 MS를 사용하였다. 시약은 1-chloro-2,4-dinitrobenzencarbon, bovine serum albumin, glutathione, dimethylsulfoxide (Sigma Co., USA), carbon tetrachloride (Janssen Co., Japan)를 사용하였으며 aspartate, alanine aminotransferase, cholesterol, triglyceride 등의 kit는 영동제약 제품을 사용하였으며 기타 모든 시약들은 일급 또는 특급 시약을 사용하였다.

### 2. 시험 약물의 제조

새로운 pentoxifylline 유도체의 구조변형은 Kim



Pentoxifylline



5-oxohexyl-1,3,7-dimethylxanthine

Fig. 1. Structures of pentoxifylline, 5-oxohexyl-1,3,7-dimethylxanthine.

등의 방법을 (Kim *et al.*, 2002) 참조하여 6-amino-1-methyluracil 1.4 g (10 mmol), 10% NaOH 4 mL와 methanol 30 mL를 넣고 교반하면서 용해시킨 후, bromobutane 1.18 mL (11 mmol)를 가하고 3시간 동안 환류시켰다. 반응종결 후에 과량의 methanol을 감압농축하여 제거하고, 농축액을 정제수 20 mL에 녹여 감압여과하였다. 여액은 chloroform 50 mL로 추출하고, 유기층을 무수 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>로 건조하여 여과한 후에 농축하였고, 잔류물은 methanol 10 mL에 재결정한 후에 흰색의 무정형결정을 얻었다. 정제수 10 mL, acetic acid 2 mL, 6N HCl 0.5 mL를 넣고 교반하면서 10분 동안 녹인 후, sodium nitrite 0.24 g (3.5 mmol)를 천천히 가해주고, 10~15분동안 더 교반해주었다. 반응한 후, 반응액을 감압여과하여 보라색의 무정형결정을 얻었다. 이 결정에 정제수 20 mL, ethyl acetate 40 mL, sodium hydrosulfite 1.2 g (6.9 mmol)를 넣고 15분 동안 강하게 교반하였다. 유기층을 분리하고, 수용액층은 ethyl acetate 100 mL로 2회 추출하고 trimethylorthoformate 20 mL를 가하고 17~19시간 환류시켰다. 반응종료 후 과량의 trimethylorthoformate를 감압농축으로 제거하고 *n*-hexane : ethyl acetate : methanol (1 : 1 : 0.2)로 재결정하여 미황색 물질을 얻었다.

ODX3: Yield: 1.21 g (53.8%), Formula C<sub>12</sub>H<sub>18</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub> (M.W. 250.30) mp 180.8~181.7°C, TLC [*n*-hexane : ethyl acetate : methanol (1 : 1 : 0.2)] Rf 0.35. <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ 13.01 (s, 1H, NH), 7.82 (s, 1H, CH, aromatic), 4.09 (t, *J*=7.5 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>), 3.65 (s, 3H, N-CH<sub>3</sub>), 1.74~1.64 (m, 2H, -CH<sub>2</sub>-), 1.42~1.31 (m, 4H, -CH<sub>2</sub>- × 3), 0.89 (t, *J*=6.9 Hz, 3H -CH<sub>3</sub>) <sup>13</sup>CNMR(CDCl<sub>3</sub>) δ 156.26 151.24 (C=O), 149.04, 140.27, 107.01 (aromatic), 41.98 (N-CH<sub>3</sub>), 31.50, 30.21, 27.95, 26.61, 22.54, 14.06 (N-hexyl). FT-IR (NaCl) cm<sup>-1</sup> 3055 (aromatic), 2960 (alkyl), 1705 (C=N), 1662 (C=O), 1265 (C-N). GC-MS *m/z* (%) 250.3 (M+) 166.1 (100.0), 250.1 (41.9), 233.1 (35.7), 167.1 (27.4), 179.1 (24.4).

ODX6: Yield: 0.38g (81.8%), Formula C<sub>13</sub>H<sub>20</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub> (M.W. 264.32) mp 72.5~75.8°C, TLC [*n*-hexane : ethyl acetate : methanol (1 : 1 : 0.2)] Rf 0.41. <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ 7.52 (s, 1H, CH, aromatic), 4.00 (t, *J*=7.6 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>), 4.00 (s, 3H, N-CH<sub>3</sub>), 3.57 (s, 3H, N-CH<sub>3</sub>), 1.69~1.59 (m, 2H, -CH<sub>2</sub>-), 1.39~1.25 (m, 6H,

-CH<sub>2</sub>- × 3), 0.88 (t, *J*=6.7 Hz, 3H, -CH<sub>3</sub>). <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ 155.66, 151.83 (C=O), 149.05, 141.72, 108.03 (aromatic), 41.82, 33.93 (N-CH<sub>3</sub>), 31.87, 30.01, 28.35, 27.00, 22.91, 14.41 (N-hexyl). FT-IR (NaCl) cm<sup>-1</sup> 3054 (aromatic), 2985 (alkyl), 1704 (C=N), 1659 (C=O), 1265 (C-N). GC-MS *m/z* (%) 264.3 (M+) 180.1 (100.0), 264.2 (52.2), 193.1 (30.6), 247.2 (21.8), 181.1 (21.5).

ODX9: Yield: 0.25 g (52.6%), Formula C<sub>14</sub>H<sub>22</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub> (M.W. 278.35) mp 62.3~65.4°C, TLC [*n*-hexane : ethyl acetate : methanol (1 : 1 : 0.2)] Rf 0.57. <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ 7.55 (s, 1H, CH, aromatic), 4.35 (q, *J*=7.2 Hz, 2H, N-CH<sub>2</sub>), 3.99 (t, *J*=7.5 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>), 3.58 (s, 3H, N-CH<sub>3</sub>), 1.71~1.62 (m, 4H, -CH<sub>2</sub>- × 2), 1.52 (t, *J*=7.2 Hz, 3H, -CH<sub>3</sub>), 1.40-1.33 (m, 6H, -CH<sub>2</sub>- × 3), 0.88 (t, *J*=6.4 Hz, 3H, -CH<sub>3</sub>). <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ 154.95, 151.49 (C=O), 148.96, 140.11, 107.02 (aromatic), 42.36, 16.54 (N-ethyl), 41.56 (N-CH<sub>3</sub>), 31.53, 29.68, 28.02, 26.68, 22.59, 14.06 (N-hexyl). FT-IR (NaCl) cm<sup>-1</sup> 3054 (aromatic), 2985 (alkyl), 1703 (C=N), 1659 (C=O), 1265 (C-N). GC-MS *m/z* (%) 278.3 (M+) 194.1 (100.0), 278.2 (70.4), 207.1 (32.3), 166.1 (29.7), 179.1 (28.4).

### 3. 시험동물

5주령의 Sprague-Dawley계 웅성 흰쥐 (180~200 g)를 (주) 대한바이오텍에서 공급받아 군당 6마리로 수용하였다. 실온에서 일주일 이상 실험실 환경에 적응시킨 뒤 일반증상을 관찰하여 건강한 동물만을 실험에 사용하였다 (실험시 210~240 g). 체중을 측정하고 평균체중에 가까운 개체를 선택하여 무작위법을 이용하여 군 분리를 실시하였다. 사료는 실험동물용 고형사료를 자유로이 섭취시켰으며 물은 충분히 공급하였다.

### 4. 약물투여

약물투여군은 약물 3종을 25 mg/kg 용량으로 사염화탄소를 주사하기 전에 경구투여로 1, 3일째에 1일 1회로 2회 전처치하였으며, 사염화탄소에 의한 간손상 유발모델은 Long and Moore (1988)의 방법에 따라 약물 최종투여 3시간 후 사염화탄소를 corn oil과 1 : 1(v/v)의 혼합액으로 체중 100 g당 1.0 mL

씩을 복강투여함으로써 급성 간손상을 유발시켰다. 사염화탄소 투여 후 18시간가량 절식시키고 치사하여 적출한 간의 무게를 측정하고 정상대조군은 실험군에 사염화탄소 주입시에 corn oil만을 복강주사하였다.

## 5. 생화학적 활성 평가

실험동물을 치사후 복부 정중선을 약간 오른쪽으로 절개하여 심장에서 채혈한 뒤, 4°C에서 30분 방치한 후 3,000 rpm에서 20분간 원심분리하여 혈청을 얻었다. 혈청의 생화학적 활성 측정은 Reitman *et al.* (1957)의 방법에 따라 실험군에서 채취한 혈청 중 aspartate transaminase (AST), alanine transaminase (ALT)을 측정하여 간세포의 사멸과 간조직의 파괴정도를 검사하였다. Triglyceride, 총 cholesterol 및 bilirubin 값을 키트를 사용하여 clinical chemical analyzer (Hitachi 7600-110, Japan)로 측정하였다. Cytosol 분획 중의 glutathione S-transferase (GST) 활성도는 1-chloro-2,4-dinitrobenzene (CDNB)이 GST에 의해 glutathione과 복합반응을 할때 황색이 탈색되는 속도를 측정하는 실험 (Habig *et al.*, 1974)을 보완한 방법으로 활성도를 산출하였다. 표준곡선으로 설정한 혈청 단백질량의 측정 (Bradford *et al.*, 1976) 방법에 따라 수행하였다. 기준값은 가열하여 불활성화한 cytosol을 사용하였으며 분자흡광계수를  $9.6 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$ 로 환산하여 계산하였다. 같은 검체에 대하여 두 번 이상 검사를 실시하여 평균치를 산출하였다.

## 6. 조직병리학적 평가

시험 종료 후 모든 시험 동물군의 간을 적출하여 간조직을 약  $1 \text{ cm}^3$  정도의 크기로 잘라서 10% 중성 완충 Formalin액에 고정하였다. 고정된 간조직을 파라핀 포매과정을 거쳐 microtome을 이용하여  $4 \mu\text{m}$  두께의 조직절편으로 제작한 다음 Hematoxylin과 Eosin 염색을 하여 광학현미경으로 관찰하였다.

## 7. 통계처리

모든 실험결과는 평균치와 표준편차로 나타내었고, 각 군간의 비교는 Student's *t*-test를 사용하였으

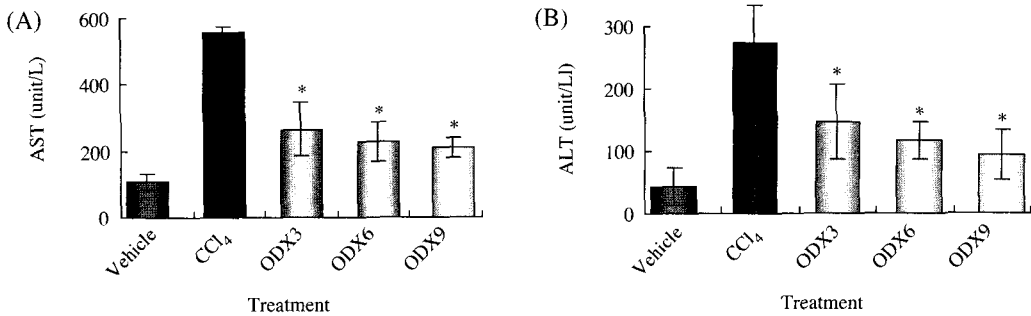
며, 대조군과 비교하여 *p*값이 5% 미만일 때를 통계학적 유의성이 있다고 판정하였다.

## 결과 및 고찰

혈류개선제인 pentoxifylline의 구조를 변형한 화합물으로써 microglia cell의 활성화 억제효과와 astrocyte로부터 NGF를 증가시키는 작용이 보고된 pro-pentoxifylline에 착안하여 (Bohm *et al.*, 2000) 새로운 뇌혈관성 치매치료제 약물의 개발을 시도하였다. 새로운 PTX 유도체의 구조변형은 6-amino-1-methyluracil을 원료물질로 선택하여 Kim 등의 합성방법을 바탕으로 (Kim *et al.*, 2002) alkylation으로 1번 위치에 butyl, pentyl 및 hexyl기를 (Howard *et al.*, 1996) 치환시켰다. 계속하여 sodium nitrite와 sodium hydrosulfite로 5번에  $\text{NH}_2$ 기를 치환하고, trimethylorthoformate로 오각형 환을 만들었으며 지용성을 높이기 위하여 7번 위치에 methyl와 ethyl기를 치환하여 새로운 약물을 합성하고 NMR, IR, GC-MS를 사용하여 Fig. 1의 구조를 확인하였다.

시험약물의 급성독성 평가모델로 사용된  $\text{CCl}_4$ 는 생체내 endoplasmic reticulum에서 사염화탄소의 homolytic cleavage에 의해 반응대상물질인 trichloromethyl 유리기로 ( $\text{CCl}_3 \cdot$ ) 대사되거나 사염화탄소가 산소와 반응하여 trichloromethyl peroxy 유리기 ( $\text{CCl}_3\text{OO} \cdot$ )로 산화되어, 세포막의 다가불포화 지방산을 과산화시킴으로써 (Recknagel *et al.*, 1989) 막의 구조와 기능을 변화시킨다고 알려져 있다. 예상하였던 바와 같이 본 연구결과에서도 사염화탄소로 간손상을 유발시킨 실험군의 간 중량이 정상군의 36.8%로 유의성있게 증가되었으며 ( $5.88 \pm 0.44 \text{ g}$ ) ( $p < 0.05$ ), 모든 약물투여군에서는 사염화탄소에 의한 체중증가가 현저히 둔화되었고 간 중량도  $3.8 \pm 2.57 \text{ g}$ 으로 정상대조군  $3.2 \pm 1.16 \text{ g}$ 과 유사한 정도의 결과를 나타내었다 ( $p < 0.05$ ) (자료생략).

혈청 생화학적 활성분석 결과는 Fig. 2에 나타낸 바와 같이 AST 활성도 변화로는 정상군이  $108 \pm 24.91 \text{ unit/L}$ 인 것에 비하여 간손상이 유발된 사염화탄소 단독투여군은  $557 \pm 17.43 \text{ unit/L}$ 으로써 약 5.2배가 증가되어 어떠한 처치도 하지 않은 정상군에 비하여 유의성있게 증가하여 간장해가 유발되었음



**Fig. 2.** The effects of 5-oxohexyl-3,7-dimethylxanthine derivatives on the levels of aspartate aminotransferase (A) and alanine aminotransferase (B) in CCl<sub>4</sub>-induced hepatotoxic rats. Significantly different from vehicle group \*p<0.05,

**Table 1.** The effects of 5-oxohexyl-3,7-dimethylxanthine derivatives on the levels of triglyceride(TG), total cholesterol (TC), total bilirubin (TB) and glutathione S-transferase (GST) in CCl<sub>4</sub>-induced hepatotoxic rats

Treatment dose (mg/kg, p.o)	TG (mg/dL)	TC (mg/dL)	TB (μmol/L)	GST (nmol/min/mg protein)
Vehicle	79.25 ± 7.43 <sup>#</sup>	78.05 ± 6.96	249 ± 61.26	389.76 ± 25.47
CCl <sub>4</sub>	105.58 ± 9.62**	97.56 ± 8.35**	350 ± 14.59*	298.34 ± 84.66*
CCl <sub>4</sub> +ODX3, 25	92.98 ± 6.35*	90.96 ± 5.88	316 ± 45.33	351.67 ± 34.93
CCl <sub>4</sub> +ODX6, 25	85.63 ± 8.84*	94.19 ± 5.78	299 ± 45.32	315.53 ± 16.21
CCl <sub>4</sub> +ODX9, 25	83.53 ± 9.65*	84.24 ± 6.89*	274 ± 31.17	348.58 ± 30.13

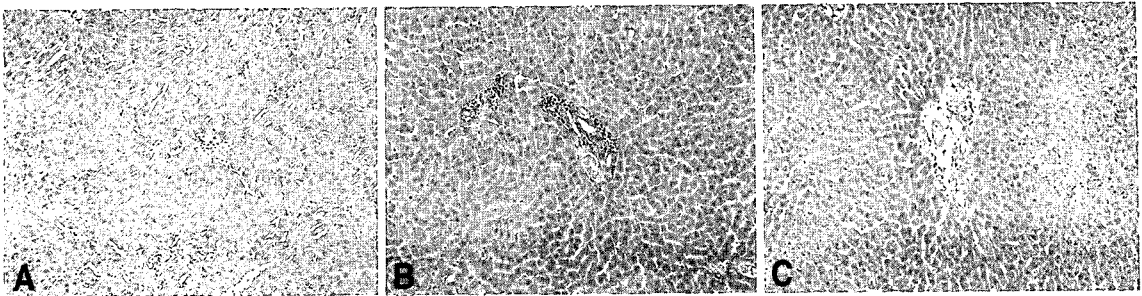
<sup>#</sup>The results presented as mean ± S.D. (n=6).  
<sup>\*</sup>Significantly different from vehicle group (p<0.05).  
<sup>\*\*</sup>Significantly different from vehicle group (p<0.01).

을 확인하였다. ALT 활성도를 평가한 결과에서도 정상군이 42 ± 38.89 unit/L인 것에 비해 사염화탄소 단독투여군은 273 ± 61.93 unit/L로써 약 6.5배 정도 증가하였다. 모든 약물투여군에서 25 mg/kg 용량으로 경구투여시 양성대조군에 비하여 급격히 증가된 AST 및 ALT 활성도를 유의성있게 저하시킨 산출결과를 나타내었다(p<0.05). 이는 사염화탄소 투여로 유발된 간 세포막의 손상이 간세포의 괴사와 간조직의 괴사로 진행됨에 따라 transaminase 등 세포질에 존재하는 효소들의 혈액내로의 유출을 증가시켜(Reitman and Frankel, 1957; Herrera et al., 2001) 효소활성도를 높인 결과로 판단된다.

Table 1에 나타낸 바와 같이 혈청 triglyceride 함량변화는 사염화탄소 단독투여군에서 116.8 ± 19.26 mg/dL으로 증가되고 총 cholesterol 함량변화는 109.46 ± 6.95 mg/dL으로 증가되었다. 비정상적인 지질대사와 지방간의 판단요소인 이들 물질에

관한 평가결과로 triglyceride 함량은 ODX3, 6, 9 군에서 각각 125%, 189%, 212%로 정상군보다 더 낮은 수치를 나타내어 유의적인 감소를 나타내었고 총 cholesterol 함량은 ODX9 군에서 133%로 유의적인 감소를 나타내었다. 따라서 이 약물들이 사염화탄소 투여로 손상된 간조직에 정상적인 지질대사를 유도한(Bedossa et al., 1994; Ljubuncic et al., 2000) 결과로 사료된다. 한편, 간담도계 장애의 지표인 총 bilirubin 함량변화에 미치는 영향은 정상군 249 ± 61.26 μmol/L에 비하여 사염화탄소 단독투여군에서 350 ± 14.59 μmol/L로 약 140% 유의적인 증가를 나타내어 사염화탄소 투여에 따른 간세포의 손상으로 증가되었다는(Niemela et al., 1995) 보고와 일치하였다. 그러나 약물투여군은 사염화탄소 단독투여군에 비교하여 거의 정상군 수준으로(ODX9 군, 274 ± 31.17 μmol/L) 감소를 나타내었으나 유의성이 없었다.

CCl<sub>4</sub>에 의한 간독성은 CCl<sub>3</sub>·에 의하여 생성된



**Fig. 3.** Histological changes of liver tissue with treatment of  $\text{CCl}_4$  and 5-oxohexyl-3, 7-dimethylxanthine derivatives. A, Vehicle; B,  $\text{CCl}_4$ -treated; C, ODX9 (Hematoxylin & Eosin Stained; original magnification  $\times 200$ ).

lipid peroxide뿐 아니라 oxygen free radical 자체도 무독화시키는 해독계 효소활성도도 연계성을 나타낸다고 (Fabris *et al.*, 1993; Habig *et al.*, 2001) 보고되고 있다. 간조직의 glutathione 포함효소인 GST의 측정결과에서는 정상군의 결과인  $389.76 \pm 25.47$  nmol/min/mg protein과 비교하여 사염화탄소 단독투여군에서  $298.34 \pm 84.66$  nmol/min/mg protein으로 유의적인 감소를 나타내었고, 모든 약물투여군은 양성대조군과 비교하여 (ODX9,  $348.58 \pm 30.13$  nmol/min/mg protein) 증가를 보였으나 통계적 유의성 차이는 없었다. 이러한 결과는 cytosol에 존재하는 GST가 microsome에서 유도되는 다른 약물대사 효소와 함께 사염화탄소와 같은 유독물질이 생체로 유입되었을 때 이를 해독시키기 위하여 기질성 유도작용이 증가된 것으로 생각된다.

Fig. 3의 조직학적 검정결과는 사진에 보이는 바와 같이, Hematoxylin & Eosin 염색에서 정상 간조직은 문맥역에 매우 소량의 지방성변화만 관찰되었으나(A), 사염화탄소 단독투여 대조군에서는 지방축적 (hepatic steasis)과 문맥역과 문맥 주위역에 염증세포가 침윤되어 출혈 및 apoptotic 괴사 등이 관찰되었다(B). 그러나 시험약물 투여군에서는 세포간극이 일부 넓어져 있거나 중심정맥 주위에 국소적인 지방축적이 생긴 정도로(C) (James *et al.*, 1982) 정상과 큰 차이가 없는 것으로 나타났다. 이와 같은 결과는 사염화탄소에 의해 유도된 간손상이 합성화합물 투여에 의해 보호된다는 것을 의미한다.

이상의 결과와 연관지어서 뇌혈관 염증억제 차단효과가 기대되는 PTX의 구조를 변형한 유도체 개발의 근거로서, 혈류개선제 PTX와 유사구조를

지닌 xanthine 유도체들이 뇌혈관성 염증억제 효과와 Prostaglandin 합성을 촉진한 결과를 보고한 바 있다(Poggesi *et al.*, 1985). 새로운 뇌혈관성 치매치료제 개발을 목표로 합성한 시험약물(ODX3, 6, 9)을 사염화탄소 단독투여한 양성대조군과 비교하여 혈청 생화학적 활성평가 및 조직학적 변화분석 결과 등에서 혈청 AST와 ALT 활성도와 total cholesterol 및 triglyceride 수준을 개선시킴으로써 사염화탄소 투여에 의해 유발된 급성 간손상 시험모델에서 간보호효과를 나타냄을 확인하였다.

## 감사의 글

본 연구는 2006년도 덕성여자대학교 연구비지원에 의해 수행된 연구결과이며 이에 감사드립니다.

## 참고 문헌

- Aisen JS and Davis KL. Inflammatory mechanism in Alzheimer's disease: implications for therapy, *Am. J. Psychiatry* 1994; 151: 1105-1113.
- Bedossa P, Houglum K, Trautwein C, Holstege A and Chojkier M. Stimulation of collagen  $\alpha(1)$  gene expression is associated with lipid peroxidation in hepatocellular injury; a link to tissue fibrosis? *Hepatology* 1994; 19: 1262-1271.
- Bohm L, Theron T and Binder A. Influence of pentoxifylline, A-802710, propentofylline and A-802715 (Hoechst) on the expression of cell cycle blocks and S-phase content after irradiation damage, *Biochim. Biophys. Acta* 2000; 1499: 1-10.

- Bradford MA. Rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding, *Anal. Biochem.* 1976; 72: 248-254.
- Cummings JL and Back C. The cholinergic hypothesis of neuropsychiatric symptoms in Alzheimer's disease, *Am. J. Geriatr. Psychiatry* 1998; 6: 64-78.
- Fabris C, Pirisi M, Panozzo M, Soardo G, Roniutto P, Hocza V and Bartoli E. Intensity of inflammatory damage and serum lipid peroxide concentrations in liver disease, *J. Clin. Pathol.* 1993; 46: 346-367.
- Grundman M, Corey-Bloom J and Thal LJ. Perspectives in clinical Alzheimer's disease research and the development of antidementia drugs, *J. Neural. Transm. Suppl.* 1998; 53: 255-275.
- Habig WH, Pabst MJ and Jakoby WB. Glutathione S-transferase. The first enzymatic step in mercapturic acid formation, *J. Biol. Chem.* 1974; 249: 7130-7139.
- Herman T, André CV and Paul D. Pentoxifylline in idiopathic male-factor infertility: a review of its therapeutic efficacy after oral administration, *Hum. Reprod* 1994; 9: 996-1000.
- Herrera B, Fernandez M, Alvarez AM, Roncero C, Benito M, Gil J and Fabregat I. Activation of caspases occurs downstream from radical oxygen species production, Bcl-x1 down-regulation, and early cytochrome C release in apoptosis induced by transforming growth factor  $\beta$  in rat fetal hepatocytes, *Hepatology* 2001; 34: 548-557.
- Howard BC, Hsiencheng S, Lida R, Tehrani D, Bruce W and Dennis AC. Substituted xanthines, pteridines, and related compounds as potential antiinflammatory agents. synthesis and biological evaluation of inhibitors of tumor necrosis factor  $\alpha$ , *J. Med. Chem* 1996; 39: 2-9.
- Iwamoto H, Kozaki K, Nakamura N, Hama K, Narumi K, Matsuno N, Kuzuoka K, Taira S, Kihara Y, Uchiyama M, Takeuchi H and Nagao T. Beneficial effects of pentoxifylline and propentofylline on the warm ischemic injury of rat livers, *Trans. proc* 2002; 34: 2677-2678.
- James JL, Moody DE, Chan CH and Smuckler EA. The phospholipids of the hepatic endoplasmic reticulum. Structural change in liver injury, *Biochem. J* 1982; 206: 203-210.
- Keith C. Clinical update on pentoxifylline therapy for diabetes-induced peripheral vascular disease, *Ann. Pharmacothera* 1995; 27: 1099-1105.
- Kim S, Melissa A, Marshall N, Kim H, Müller CE, Joel L and Kenneth AJ. Structure-activity relationships at human and rat A2B adenosine receptors of xanthine derivatives substituted at the 1-, 3-, 7-, and 8-positions, *J. Med. Chem* 2002; 45: 2131-2138.
- Ljubuncic P, Tianne Z and Bomzon A. Evidence of systemic phenomenon for oxidative stress in cholestatic liver disease, *Gut* 2000; 47: 710-716.
- Long RM and Moore L. Biochemical evaluation of rat hepatocyte primary cultures as a model for carbon tetrachloride hepatotoxicity: comparative studies in vivo and in vitro, *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1988; 92(2): 295-306.
- McGeer PL and McGeer EG. Inflammation, autotoxicity and Alzheimer disease, *Neurobiol. Aging* 2001; 22: 799-809.
- Niemela O, Parkkila S, Yla-Herttuala S, Villanueva J, Ruebner B and Hsdltded CH. Sequential acetaldehyde production, lipid peroxidation, and fibrogenesis in micropig model of alcohol-induced liver disease, *Hepatology* 1995; 22: 1208-1214.
- Peterson TC. Pentoxifylline prevents fibrosis in an animal model and inhibits platelet-derived growth-driven proliferation of fibroblasts, *Hepatology* 1993; 17: 486-493.
- Poggesi L, Scarti L, Boddi M, Masotti G and Seneri GG. Pentoxifylline treatment in patients with occlusive peripheral arterial disease. Circulatory changes and effects on prostaglandin synthesis, *Angiol. J. Vas. Dis* 1985; 628-637.
- Preaux A, Mallat A, Rosenbaum J, Zafrani E and Mavier P. Pentoxifylline inhibits growth and collagen synthesis of cultured human hepatic myofibroblast-like cells, *Hepatology* 1997; 26: 315-322.
- Recknagel RO, Glende EA, Dolak JA and Waller RL. Mechanisms of carbon tetrachloride toxicity, *Pharmacol. Ther* 1989; 43: 139-154.
- Reitman S and Frankel SA. Colorimetric method for the determination of serum glutamic oxaloacetic and glutamic pyruvic transaminase, *Am. J. Clin. Pathol* 1957; 28: 56-63.
- Windmeier C and Gressner AM. Effect of pentoxifylline on the fibrogenic functions of cultured rat liver fat-strong cells and myofibroblasts, *Biochem. Pharmacol* 1996; 51: 577-584.